



(10) DE 10 2005 018 644 A1 2005.11.10

Offenlegungsschrift

(51) Int Cl.⁷: **A61F 2/28**

A61B 17/56, A61L 27/50, C12N 5/08

(72) Erfinder:
Biewener, Achim, 01259 Dresden, DE; Brückner,
Norman, 08258 Markneukirchen, DE; Gliesche,
Konrad, 01465 Langebrück, DE; Scharnweber,
Dieter, 01324 Dresden, DE; Wollenweber, Marcus,
01099 Dresden, DE; Worch, Hartmut, 01187
Dresden, DE

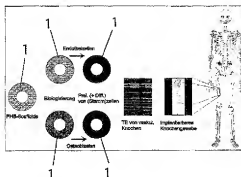
(74) Vertreter:
Kailuweit & Uhlemann, Patentanwälte, 01187
Dresden

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

(54) Bezeichnung: Implantat, dafür bestimmte Flächengebilde zur Behandlung von Röhrenknochendefekten sowie Verfahren zur Herstellung des Implantats

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft ein Implantat, dafür bestimmte Flächengebilde zur Behandlung von Röhrenknochendefekten, insbesondere segmentalen Röhrenknochendefekten, sowie ein Verfahren zur Herstellung des Implantats.

Das Implantat zur Behandlung von Röhrenknochendefekten enthält mindestens zwei Lagen von Flächengebilden aus biotolerierbaren Materialien, wobei die Flächengebilde und die Lagen der Flächengebilde an die Geometrie des Röhrenknochendefektes angepasst sind, wobei die Lagen aus Stapeln und/oder Rollen und/oder Wickeln und/oder Faltungen der Flächgebilde bestehen und wobei die Flächengebilde und/oder Lagen miteinander und nach außen verbundene Hohlräume aufweisen, die das Einwandern von Zellen sowie Einwaschen von Blutgefäßen erlauben.



B2

Beschreibung

[0001] Die Erfindung betrifft ein Implantat, dafür bestimmte Flächengebilde zur Behandlung von Röhrenknochendefekten, insbesondere segmentalen Röhrenknochendefekten sowie ein Verfahren zur Herstellung des Implantates.

Stand der Technik

[0002] Der Verlust eines Segmentes von Knochenmasse muss im Röhrenknochen so behandelt werden, dass über eine Kompartimentierung die Knochenneubildung gefördert und zugleich ein Einwachsen von unspezifischem Bindegewebe in den Defekt möglichst verhindert wird. Weiter ist zur Aufrechterhaltung der mechanischen Funktion eine Fixierung erforderlich. Diese kann sowohl im Körperinneren als auch außerhalb zu liegen kommen.

[0003] Die Trennung zwischen dem besagten Defektraum und dem Umgebungsgewebe kann durch eine teilpermeable resorbierbare Polymermembran erfolgen (Gerber A, Gogolewski S; Injury 33 (2002), S-B43-57). Durch die Anwendung von periosteal flaps kann das gleiche Ziel erreicht werden. In beiden Fällen wird die Knochenneubildung durch autologe Spongiosa, die in das geschaffene Kompartiment eingebracht wird, unterstützt. Dabei ist man allerdings auf kleine Defektbereiche beschränkt, da körpereigenes Material zur Defektfüllung nur eingeschränkt verfügbar ist. Speziell nach Tumorresektionen sind diese Methoden daher suboptimal. Zur mechanischen Stabilisierung des Defektes wird ein Marknagel in die Markräume eingesetzt und fixiert.

[0004] Eine weitere Möglichkeit um dem neu zu bildenden Knochengewebe Raum zu erhalten, ist der Einsatz von teil-porösen Hohlzylindern aus resorbierbaren Polymeren. Getränkt mit einer Suspension aus Knochenmarkspasir, Blut und anderen Körperflüssigkeiten werden diese koaxial um den zentralen Marknagel positioniert. Dies wurde von Davydov, Belykh, Shaposhnikov et. al. vorgeschlagen (WO 90/11726). Die geringe Porosität in Verbindung mit den Dimensionen des Implantates führt zu einer Behinderung des Stofftransportes. Damit einher geht die Problematik der Versorgung von lebendem Material im Inneren des Implantates. Der hohe Volumenanteil an Polymer kann während seines Abbaus zu einer starken Ansäuerung des Umgebungsgewebes führen, wodurch die Osteogenese unterdrückt oder verhindert werden kann.

[0005] Aber auch polymere Materialien, die keiner Resorption unterliegen, werden als zeitweiliger Platzhalter eingesetzt wie z.B. PMMA (Romana MC, Masquelet AC; Plast. Reconstr. Surg. 85 (1990), 587-592). Trotz ihrer guten biologischen Verträglichkeit und mechanischen Eigenschaften, die dem Ein-

satz entsprechen können, überwiegt dabei der Nachteil der fehlenden Gewebefunktionen.

[0006] Aus EP 12 52 905 A2 sind resorbierbare, textile Patch-Implantate aus Poly(3-hydroxybuttersäure)-Flächengebilden bekannt. Derartige Patch-Implantate werden im Wesentlichen zum Schließen von Gewebedefekten eingesetzt. Diese Implantate dürfen dabei keine Porosität aufweisen. Dadurch würde eine Kompartimentierung verhindert. Eine Kombination mit Folien wird zur Verminderung der Durchlässigkeit genutzt. Weiterhin ist eine gezielte Anpassung und Vorbereitung notwendig. Eine ausreichende Zytokompatibilität wird so z. B. erst durch Plasmabehandlungen erreicht (Schmack G et al.; Biomaterialien 3 (1) 2002, 21-25). Um einen biokompatiblen Oberflächenbereich zu erzeugen, sind weitere Maßnahmen demnach unerlässlich.

[0007] EP 0 744 762 B1 beschreibt gestickte chirurgische Textilimplantate, in Kombination mit einem Grundgewebe. Merkmale werden durch eine spezielle Faserkombination und eine spezielle Faltung, Windung oder Beladung mit Wachstumsfaktoren definiert. Eine biomimetische Modellierung der Nische oder gar ein in vitro Tissue Engineering werden nicht in Betracht gezogen.

Aufgabenstellung

[0008] Aufgabe der Erfindung ist es, ein Implantat sowie dafür bestimmte Flächengebilde zur Behandlung von Röhrenknochendefekten zu schaffen. Dabei sollen Implantat und Flächengebilde die Bildung und das Einwachsen von Knochen-, Blinde- und Versorgungsgewebe fördern und steuern.

[0009] Erfindungsgemäß wird die Aufgabe dadurch ein Implantat gelöst, das mindestens zwei Lagen von Flächengebilden aus bioresorbierbaren Materialien enthält, wobei die Flächengebilde und die Lagen der Flächengebilde an die Geometrie des Röhrenknochendefektes angepasst sind und die Lagen aus Stapeln und/oder Rollen und/oder Wickeln und/oder Faltungen der Flächengebilde bestehen. Dabei weisen die Flächengebilde und/oder Lagen miteinander und nach Außen verbundene Hohlräume und eine interkonnektierte Porosität auf, die das Einwachsen von Zellen sowie Einwachsen von Blutgefäßen erlauben.

[0010] In einer vorteilhaften Ausgestaltung der Erfindung besteht das Implantat aus mindestens zwei Lagen von teilweise oder ganz mit einer künstlichen extrazellulären Matrix beschichteten Flächengebilden.

[0011] Die für die erfindungsgemäßen Implantate bestimmten Flächengebilde bestehen aus bioresorbierbaren Materialien, sind an die Geometrie des Röhrenknochendefektes angepasst und weisen nach

Innen und Außen reichende Hohlräume und eine interkonnectierte Porosität auf, die das Einwandern von Zellen sowie Einwachsen von Blutgefäßen erlaubt.

[0012] Die für die erfindungsgemäßen Implantate bestimmten Flächengebilde haben im unbelasteten Zustand eine Dicke von 0,05 – 5 mm. Die Flächengebilde verfügen über eine Porosität, die mindestens 60 % des Gesamtvolumens ausmacht. Diese Porosität ist interkonnectiert und macht dadurch das Porenvolumen im Inneren von der Oberfläche des Flächengebildes aus erschließbar. Mindestens 50 % der Porosität ist in Poren enthalten, die einen kleinsten Durchmesser von mehr als 40 µm haben. Dieses Volumen wird als Hauptporosität bezeichnet. Liegen mehrere Poren in der Hauptporosität aneinander, so ist der Durchmesser der Verbindungöffnung nicht kleiner als 40 µm.

[0013] Die Struktur der erfindungsgemäßen Flächengebilde erlaubt es, stets so gestapelt oder gerollt zu werden, dass an den Kontaktflächen mindestens 60 % Übereinstimmung der beiden Strukturen vorhanden ist. Das bedeutet, dass mindestens 60 % der geöffneten Fläche ebenfalls auf Öffnungen des angrenzenden Bereiches zu liegen kommt.

[0014] Die für die erfindungsgemäßen Implantate bestimmten Flächengebilde werden vorzugsweise zur Anpassung ihrer physikochemischen Oberflächeneigenschaften vor der Implantation modifiziert. Bevorzugt wird eine hydrophile Oberfläche durch nasschemische Verfahren erzeugt. Für den Fall, dass das Flächengebilde aus Polyestern besteht, wird eine hydrophile Oberfläche bevorzugt durch Behandlung mit Säuren, Basen oder Enzymen, wie z.B. Esterasen, erzeugt. Dadurch wird die Benetzbarkeit der Flächengebilde, vor allem solcher mit kleinen Nahtabständen und/oder kurzen Stichtlängen bzw. – im Falle von Vliesen – engen Strukturweiten, mit wässrigen Medien für weitere Prozessschritte verbessert. Dies ist auch für den Fall der nachfolgenden Beschichtung mit Komponenten der extrazellulären Matrix von Vorteil.

[0015] Die für die erfindungsgemäßen Implantate bestimmten Flächengebilde sind vorzugsweise auf einem Teil ihrer Oberfläche oder vollständig mit einer künstlichen extrazellulären Matrix beschichtet, welche die Besiedlung mit einer spezifischen Zellart fördert und/oder die Proliferation von Progenitorzellen und deren Differenzierung erlaubt.

[0016] Darunter sind beispielsweise unterschiedliche Anteile der Beschichtung an der Oberfläche des Flächengebildes (vollständige Beschichtung oder teilweise Beschichtung). Unterschiede in der Zusammensetzung der künstlichen extrazellulären Matrix, in der Substrukturierung der extrazellulären Matrix

und/oder im Ort der Beschichtung mit der künstlichen extrazellulären Matrix auf dem Flächengebilde zu verstehen.

[0017] Die Beschichtung des Flächengebildes erfolgt dabei ungeordnet oder geordnet, beispielsweise mittels orts aufgelöster Mikrodosiersysteme. Ziel dieser Herangehensweise ist es, damit 3 dimensional orts aufgelöst Prozesse der Adhäsion, Migration, Proliferation und Differenzierung unterschiedlicher Zelltypen gezielt zu steuern (Cell-Guidance).

[0018] Vorzugsweise wird die künstliche extrazelluläre Matrix durch gerichtete oder ungerichtete Gefrier-trocknungsprozesse oder auch durch das teilweise Durchmischen der Lösung mit wässrigen Gelen aus Kohlenhydraten oder Glykosaminoglykanen sub-strukturiert. In beiden Fällen wird ermöglicht, dass die inneren Oberflächen des Flächengebildes (Maschen, Poren) weiter erschließbar bleiben. Dies ist vorteilhaft, um ein Einwachsen des Zellmaterials zu ermöglichen.

[0019] Die Zusammensetzung der künstlichen extrazellulären Matrix ist dabei abhängig von der gewünschten Gewebefunktion (z.B. Blutgefäßbildung, Knorpel, Knochen) aufgebaut.

[0020] In einer bevorzugten Ausführungsform enthält die künstliche extrazelluläre Matrix Strukturproteine, vorzugsweise xenogene Kollagene aller Typen, oder davon abgeleitete Polypeptide, die mit einer Flächendichte von 10 bis 100 µg/mm² auf das Flächengebilde aufgebracht werden. Diese Strukturproteine begünstigen die gewebespezifische Adhäsion und Proliferation von humanen Zellen ex vivo und erlauben, begünstigen bzw. induzieren insbesondere die Differenzierung von humanen mesenchymalen Stammzellen (hMSC) oder anderen Osteoprogenitorzellen.

[0021] In einer besonders bevorzugten Ausführungsform sind Kollagene vom Typ I oder davon abgeleitete Polypeptiden der Hauptbestandteil der künstlichen extrazellulären Matrix. Eine derartige künstliche extrazelluläre Matrix fördert insbesondere die Ausbildung von Knochengewebe.

[0022] Für die Behandlung von Knorpeldefekten ist bevorzugt Kollagen II Hauptbestandteil der künstlichen extrazellulären Matrix.

[0023] Im Gegensatz dazu ist für eine Vaskularisierung eine gefäßanaloge künstliche extrazelluläre Matrix erforderlich. Dafür werden insbesondere Strukturproteine der Gefäßauskleidung als Bestandteil der künstlichen extrazellulären Matrix eingesetzt, bevorzugt Fibrinogen. Diese künstliche extrazelluläre Matrix, die zur der Blutgefäßbildung dient, fördert insbesondere die Besiedlung mit humanen dermalen mi-

krovaskulären Endothelzellen (HMEC), Endothelprogenitorzellen und/oder erlaubt die Proliferation von humanen mesenchymalen Stammzellen und deren Differenzierung entlang einer vaskulären Endothelzell-Linie.

[0024] Die künstliche extrazelluläre Matrix wird vorzugsweise weiter dazu herangezogen, um dort weitere Substanzen der natürlichen extrazellulären Matrix zu immobilisieren. Durch Adsorption oder Einbau optional gefolgt von kovalenter Vernetzung werden z.B. Glykosaminoglykane (Chondroitinsulfat, Heparansulfat), Glykoproteine, Proteoglykane oder oben genannte Strukturproteine einbezogen. Diese zusätzlichen Komponenten dienen gegebenenfalls der verbesserten Differenzierung des aufgetragenen Zellmaterials. Durch Wechselwirkung mit bestimmten Supplementen der Zellkultur oder nativen Serumbestandteilen wie z.B. Zytokinen oder Hormonen entfaltet die künstliche extrazelluläre Matrix hier eine ko-stimulatorische Wirkung, die in einer vollständigen oder beschleunigten Differenzierung resultiert. Dieses Vorgehen eröffnet z.B. die Möglichkeit, innerhalb mehrerer Flächenelemente unterschiedliche Differenzierungszustände des Zellmaterials zu generieren.

[0025] Die Flächengebilde werden vorzugsweise zu einer dreidimensionalen Struktur gestapelt oder gewickelt. Die Zuordnung der Lagen und gegebenenfalls ihre Stabilisierung können durch die Fixierung an einem Marknagel, einem anderen Fixateur (8) wie beispielsweise resorbierbare Schrauben sowie durch Vernähen erfolgen.

[0026] Als Ausgangsmaterial für die Flächengebilde dienen vorzugsweise textile Flächengebilde aus bioresorbierbaren Materialien, beispielsweise Poly(3-hydroxybutyrat) (P3HB) oder Poly-L-Milchsäure(50mol%)-Glykolsäure(mol50%) (PLGA).

[0027] Sie können durch Sticken mit resorbierbaren multi- oder monofilen Fäden auf entfernbare Trägerfolie, vorzugsweise aus wasserlöslichem, nicht toxischem Polyvinylalkohol (PVA), erzeugt werden. Ebenso können andere textiltechnische Prozesse genutzt werden, um die Vorstufen der Flächengebilde zu erzeugen. Dabei werden vorteilhaft mehrere Materialien kombiniert. Auf diese Weise können ortsabhängig unterschiedliche Materialeigenschaften eingestellt werden. So wird beispielsweise eine lokale Kontrolle der Degradationsgeschwindigkeit erreicht. Indem zwei Materialien mit unterschiedlichem Degradationsverlauf in einem Flächengebilde kombiniert werden, ist es möglich eine Kompartimentierung im Randbereich zu erhalten und dennoch im Inneren in vorbeschriebener Weise durch schneller Bioreabsorption Raum zu schaffen für natives de novo Gewebe.

[0028] Es können auch filzartige nicht-gewebte

Stoffe oder poröse Platten, die über Prozessschritte wie beispielsweise Schäumen, Pressen von Granulaten oder Fasern gefolgt vom Auslagern einer löslichen Zweitphase erzeugt werden, verwendet werden.

[0029] Der Aufbau des dreidimensionalen Implantats aus mehreren Lagen von zweidimensionalen Flächengebilden erlaubt vorteilhaft die einfache patientenspezifische Anpassung an die vorliegende Defektgröße durch die Kombination einer geeigneten Anzahl von Lagen der verwendeten Flächengebilde bei gegebener Dicke der Flächengebilde.

[0030] Erfindungsgemäß wird ein Implantat zur Behandlung von Röhrenknochendefekten aus mindestens zwei Lagen von Flächengebilden aus bioresorbierbaren Materialien und mit nach Innen und Außen reichenden Hohlräumen und einer interkonnektierten Porosität hergestellt, wobei die Geometrie des Röhrenknochendefektes bestimmt und in zweidimensionale Strukturmuster für die Flächengebilde übertragen wird, wobei die Flächengebilde anhand dieser Strukturdaten gefertigt werden und vor der Implantation gemäß der Defektgeometrie zusammengeführt und in den Defektraum implantiert werden.

[0031] Die Geometrie der einzelnen Flächengebilde wird bevorzugt aus dreidimensionalen Daten der Computertomographie ermittelt. Dabei werden Patientendaten des Defektvolumens durch Anwendung gängiger Methoden zur Erzeugung von Schnittdarstellungen aus Daten der Computertomographie in zweidimensionale Strukturmuster übertragen.

[0032] Die Defektgeometrie wird in zweidimensionale Strukturmuster für die Flächengebilde übertragen. Im einfachsten Fall kann dabei auf einfache vorkonfektionierte Standardgeometrien (Ronden, Ellipsen, ...) zurückgegriffen werden. Sind 3D-Daten vorhanden kann über ein CAD-Interface die Formgebung und die Strukturierung der Flächengebilde durch beispielsweise Schnittprozesse oder Textilprozesse erfolgen. So können neben einer spezifischen Geometrie auch Gradienten in der Materialflächendichte erzeugt werden, die Kongruenz zum Gewebe aufweisen. Oder die Materialzusammensetzung wird orts aufgelöst variiert, um beispielsweise unterschiedliche Degradationszeiten aneinander liegender Bereiche zu einzustellen.

[0033] Die so gefertigten Flächengebilde können physikochemisch oberflächenmodifiziert werden. Vorzugsweise wird die Oberfläche hydrophiliert. Dieser Schritt dient einer verbesserten Biofunktionalisierbarkeit und einer Optimierung der Oberfläche für den direkten Zell- und Gewebekontakt. Die physikochemische Modifikation kann orts aufgelöst oder ganzflächig erfolgen, indem Säuren, Basen oder geeignete Enzyme aufgebracht werden.

[0034] Nun kann die Aufbringung einer künstlichen extrazellulären Matrix folgen. Sie dient der Cell Guidance (Steuerung von Adhäsion, Proliferation, Differenzierung, ...) und kann aus beliebig vielen Komponenten bestehen. Die Konzentration und die Zusammensetzung der Matrix können eine Funktion des Ortes sein.

[0035] Die funktionalisierten Flächengebilde werden mit Zellen besiedelt, die idealerweise patienteneigen sind und die Wiederherstellung der Gewebefunktion im Defekt erleichtern oder sichern. Die Zellbesiedlung der Oberflächen erfolgt aus Suspension und führt zu einer homogenen Zellbedeckung an den beiden Oberflächen des Flächengebildes. In vitro können diese Flächengebilde sehr gut kultiviert werden. Die Erreichbarkeit der Zellen mit Nährstoffen und Supplementen ist ausgezeichnet, da keine Wege ins Volumen zurückgelegt werden müssen (Strömung statt Diffusion). So kann je nach Situation einfach zunächst die Proliferationsrate verbessert werden und eine anschließende Gabe von entsprechenden Wirkstoffen zu einer – zumindest einsetzenden – Differenzierung führen.

[0036] Vor der Implantation werden die Flächengebilde gemäß der zuvor ermittelten Defektgeometrie zusammengeführt. Es entsteht durch Stapel oder Rollen ein räumlich strukturiertes Volumen. Durch das Verfahren werden die lokalen Eigenschaften des Trägermaterials (Flächengebilde), die lokale Matrixzusammensetzung (Funktionalisierung) und das lokale Vorhandensein bestimmter Zelltypen (Besiedlung) kontrollierbar.

[0037] Mit einer Fixierung wird dieses Konstrukt in den Defektraum implantiert.

[0038] Alternativ kann die Formgebung auch durch das Ausschneiden oder Stanzen von Bereichen aus filzartigen nicht-gewebten Stoffen oder porösen Platten entsprechender Dicke mittels Laser, Wasserstrahl oder Stanzformen erfolgen.

[0039] In beiden Fällen kann ein definierter ortsauflöser Gradient der Materialflächendichte eingestellt werden, beispielsweise im Fall der textilen Flächengebilde durch radial verlaufende Nahtlinien im Winkelabstand von 10° und parallel zur Außenkontur geführte Nähte, die einen linearen Porositätsgradienten von 90 % (Außenbereich) zu 65 % (Innenbereich) erzeugen. Diese Herangehensweise zielt auf drei Aspekte: Eine Kompartimentierung zu erreichen, die mechanischen Eigenschaften der Flächengebilde ortsauflöst einzustellen sowie das Einwachsen von Zellen gezielt zu steuern (Cell-Guidance).

[0040] Durch das Aufeinanderstapeln mehrerer Lagen einzelner unterschiedlich beschichteter Flächengebilde werden im Implantat vorteilhaft funktio-

nell unterschiedliche Bereiche erzeugt, die je nach Zusammensetzung der künstlichen extrazellulären Matrix bzw. je nach Vorbesiedlung mit unterschiedlichen Zellarten verschiedene Gewebefunktionen ausüben, z.B. die Bildung von Knochengewebe, Knorpelgewebe oder die Einsprossung von Blutgefäßen.

[0041] In einer Operation wird der Defektraum mit dem Implantat aufgefüllt, wobei die unterschiedlich beschichteten und ggf. mit Zellen besiedelten Flächengebilde bevorzugt alternierend so gestapelt werden, dass Kongruenz zum umgebenden Gewebe besteht.

[0042] Das erfindungsgemäße Implantat ermöglicht so beispielsweise das Auffüllen von segmentalen Defekten in Röhrenknochen mit einem Stapel aus beschichteten Flächengebilden, die mit einem zentralen Marknagel als Fixateur stabilisiert werden.

[0043] In Folge der Implantation entstehende Bohrungen können ebenfalls durch das Einbringen eines Stapels von beschichteten Flächengebilden versorgt werden. In der Epiphyse des Röhrenknochens kann dabei ein Stapel eingebracht werden, der in der obersten Schicht mit knorpeltypischen Bindegewebskomponenten wie beispielsweise Kollagen II und Hyaluronsäure funktionalisiert ist.

[0044] Besonders vorteilhaft ist es, die mit der extrazellulären Matrix beschichteten Flächengebilde im Zellkulturmedium vor dem Zusammensetzen des Implantats mit defekt und defektumgebungstypischen Zellen zu kontaktieren, da die auf den Flächengebilden adhären Zellen durch die lose Anordnung der Flächengebilde im Medium besser durch Nährstoffe und Supplemente erreichbar sind als bei herkömmlichen Verfahren. Dies erlaubt eine erhöhte Proliferationsausbeute in Kombination mit einer folgenden beschleunigten Differenzierung von Progenitorzellen. In einer besonders bevorzugten Ausführungsform der Erfindung stammen die genutzten Zellen vom Patienten selbst. Zugleich resultieren aus dieser vorteilhaften Vorgehensweise im Volumen homogen mit gleichartigen oder verschiedenartigen Zelltypen besiedelte dreidimensionale Implantate.

Ausführungsbeispiel

[0045] Anhand der folgenden Ausführungsbeispiele wird die Erfindung näher erläutert. In den Zeichnungen zeigen

[0046] Fig. 1: eine schematische Darstellung der Herstellung eines erfindungsgemäßen Implantats aus mehreren Lagen von unterschiedlich beschichteten Flächengebilden,

[0047] Fig. 2: ein erstes textiles Flächengebilde,

- [0048] Fig. 3: ein zweites textiles Flächengebilde,
 [0049] Fig. 4: ein drittes textiles Flächengebilde,
 [0050] Fig. 5: ein viertes textiles Flächengebilde,
 [0051] Fig. 6: ein mit Fäden fixierter Stapel,
 [0052] Fig. 7: ein mit einem Marknagel fixierter und verstärkter Stapel,
 [0053] Fig. 8: ein Band aus Flächengebilden zur Bildung eines Stapels,
 [0054] Fig. 9: ein Wickel aus zwei Flächengebilden,
 [0055] Fig. 10: ein Flächengebilde aus einem Vlies,
 [0056] Fig. 11: ein Flächengebilde aus einer porösen Platte.
 [0057] In den beigefügten Zeichnungen werden folgende Bezugszeichen verwendet:

Bezugszeichenliste

- 1 Flächengebilde
- 2 Faden
- 3 Marknagel
- 4 konturiertes Band
- 5 Loch
- 6 ortsaufgelöst funktionalisierte Bereiche
- 7 Stapel
- 8 Fixateur

Ausführungsbeispiel

Ausführungsbeispiele

[0058] Fig. 1 zeigt eine schematische Darstellung, anhand welcher erläutert wird, wie aus mehreren Lagen von textilen Flächengebilden 1 ein erfindungsgemäßes Implantat zur Behandlung eines Röhrenknochendefekts aufgebaut wird.

[0059] Fig. 2 zeigt ein textiles Flächengebilde 1, das kreisförmig mit zwanzig mm Durchmesser ist, eine mittige konzentrische kreisförmige Öffnung von vier mm Durchmesser aufweist, wobei Stichtänge und Nahtabstand 0,6 mm betragen. Zusätzlich enthält das textile Flächengebilde 1 vier radial angeordnete, gleichverteilte Schlitzte mit einer Breite von einem mm.

[0060] Fig. 3 zeigt ein zweites textiles Flächengebilde 1 mit interkonnectiertem Hohlvolumen (Maschenräume). Die Struktur verfügt über orthogonal sowie umlaufend verlaufende Nahtlinien. Die Konturform ist gemäß der ermittelten Defektgeometrie frei erzeugbar und stammt vorzugsweise aus patientenspezifischen Daten.

schen Daten.

[0061] Fig. 4 zeigt ein drittes textiles Flächengebilde 1 ähnlich dem aus Fig. 3, das zusätzlich mit einer zentralen Öffnung von 4 mm Durchmesser versehen ist und eine unterschiedliche Materialflächendichte aufweist. Die Nahtlinien verlaufen parallel zur Außenkontur und radial im Winkelabstand von 10° und erzeugen einen linearen Porositätsgradienten von 90 % (Außenbereich) zu 65 % (Innenbereich).

[0062] Fig. 5 zeigt das Flächengebilde 1 aus Fig. 4, jedoch ortsaufgelöst mit einer künstlichen extrazellulären Matrix beschichtet. Durch den Grauwert der Fläche wird die Flächenkonzentration dargestellt, wobei schwarz die maximale Flächenkonzentration und weiß die minimale Flächenkonzentration darstellt.

[0063] Fig. 6 zeigt drei aufeinander gestapelte Flächengebilde 1 gemäß Fig. 3, deren Lage zueinander durch fadenförmige Befestigungselemente 2 fixiert ist, die etwa senkrecht durch die Flächengebilde 1 verlaufen.

[0064] Fig. 7 zeigt drei übereinander gestapelte Flächengebilde 1, die in ihrer Lage zueinander auf einem Marknagel 3 befestigt sind. Die drei Flächengebilde sind ortsaufgelöst unterschiedlich beschichtet (1a und 1b).

[0065] Fig. 8 zeigt ein konturiertes Band 4 aus einem Vlies, das einem Libello aus zusammenhängenden, mittig gelochten rundenförmigen Flächengebilden 1 entspricht. Der Durchmesser aller rundenförmigen Flächenelemente 1 beträgt 35 mm, der überlappende Bereich hat eine maximale Ausdehnung von 5 mm. Die Löcher 5 haben einen Durchmesser von 5 mm. Dieses Band 4 wird analog Ausführungsbeispiel 2 mit einer Matrix aus Kollagen I und Chondroitin-4-sulfat beschichtet. An einer definierten Position wird eine zusätzliche ortsaufgelöste Beschichtung mit Heparansulfat 6 analog Ausführungsbeispiel 1 eingebracht, die beim Falten zu einem kongruenten Volumen dieser Funktionalisierung führt.

[0066] Durch Falten des konturierten Bandes 4 entsteht ein Stapel 7 aus Flächengebilden 1. Dabei wird in jeden Knick ein weiteres rundenförmiges Flächengebilde 1 eingelegt, das ebenfalls ortsaufgelöst mit Heparansulfat funktionalisiert 6 ist. Diese Funktionalisierung reicht jedoch bis zum Rand des Konstruktes und stellt so einen Kontakt dieses Volumens mit der äußeren Grenzfläche des Implantates her. Das konturierte Band 4 und die rundenförmigen Flächengebilde 1 verfügen über ortsaufgelöst funktionalisierte Bereiche 6 und Löcher 5, die beim Stapel 7 kongruent zueinander zu liegen kommen.

[0067] Die Besiedlung und Vorkultur erfolgt gemäß

Ausführungsbeispiel 1. Fixiert wird mittig mit einem Marknagel.

[0068] Fig. 9 zeigt zwei aufeinander liegende Flächengebilde **1a** und **1b**, die um einen Fixateur **8** im Defektraum gewickelt werden.

[0069] Es werden durch Sticken mit Parametern aus Ausführungsbeispiel 1 rechteckige Flächengebilde **1** erzeugt (30 mm × 200 mm). Das erste Flächengebild **1a** wird mit Matrix **1** aus Ausführungsbeispiel 2 beschichtet. Das zweite Flächengebild **1b** erhält eine Funktionalisierung mit Heparansulfat analog Ausführungsbeispiel 1. Die beiden Flächengebilde **1a** und **1b** werden übereinander gelegt, um einen Fixateur **8** gewickelt und mit geeignetem Nahtmaterial am Fixateur befestigt. Die Besiedlung und Vorkultur erfolgt gemäß Ausführungsbeispiel 1.

[0070] Fig. 10 zeigt ein Flächengebild **1**, das durch schneidende Formgebungsverfahren aus einem Vlies gewonnen wurde.

[0071] Fig. 11 zeigt ein aus einem interkonnektiert porösen flachen Halbzeug ausgestanztes Flächengebild **1**.

Ausführungsbeispiel 1

[0072] Behandlung eines Röhrenknochendefektes von 3 cm Länge. Zur Behandlung eines Röhrenknochendefektes von 3 cm Länge werden zunächst zwei verschiedene textile Flächengebilde **1** (Scaffolds) aus 12-filamentären Fäden aus Poly(3-hydroxybutyrat) (P3HB) auf ein Trägervlies aus Polyvinylalkohol mit Doppelsteppstich gestickt.

[0073] Ein erstes textile Flächengebild dient nach entsprechender Präparation zur Besiedlung mit Osteoblasten, welche auf diesem ein Knochengewebe aufbauen (siehe Fig. 1 unten). Ein zweites textiles Flächengebild dient nach entsprechender Präparation zur Besiedlung mit Endothelzellen, welche auf diesem vaskuläres Gewebe aufbauen (siehe Fig. 1 oben).

[0074] Das erste textile Flächengebild (Typ 1) ist kreisförmig, 20 mm Durchmesser, und hat eine mittige konzentrische kreisförmige Öffnung von 4 mm Durchmesser, Stichlänge und Nahtabstand betragen 0,6 mm. Das zweite textile Flächengebild (Typ 2) enthält zusätzlich 4 radial angeordnete, gleichverteilte Schlitzte mit einer Breite von 1 mm (siehe Fig. 2).

[0075] Die fertig gestickten Flächengebilde **1** werden durch Spülen mit 60°C warmem Wasser, in dem sich der Polyvinylalkohol auflöst, von dem Trägervlies gelöst. Eventuell vorhandene Reste silikonhaltiger Schmierstoffe werden in einem Reinst-Hepatan-Bad bei Raumtemperatur aus den textilen Flä-

chengebilden **1** entfernt. Durch ein anschließendes Eintauchen der textilen Flächengebilde **1** in methanolische (50 % v/v) Natronlauge (1,5 mol/l) für eine Dauer von 30 min wird die Oberfläche der textilen Flächengebilde **1** hydrophilisiert.

[0076] Zur Beschichtung des ersten textilen Flächengebildes **1** (Typ 1) wird eine Tropkollagen-Lösung (10 mg/ml in 10 mmol/l Essigsäure) enthaltend Chondroitin-4-sulfat (2 mg/ml) hergestellt. Der pH-Wert wird durch geeignete Puffer auf 7,4 eingestellt. Ein Kollagen-Massen-Äquivalent von 30 µg/mm² wird auf die textilen Flächengebilde gegeben und zur Ausbildung einer Struktur bei 37 °C für 12 h inkubiert. Das Einfrieren bei -20 °C, anschließendes Gefriertrocknen, das Vernetzen mit EDC (N-Ethyl-N'-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimid) (CAS 25952-53-8, 20 mg/ml, pH 5,5) und abschließendes Spülen mit Kochsalzlösung und destilliertem Wasser gewährleisten eine Substrukturierung. Die so hergestellten textilen Flächengebilde **1** werden mit Ethylenoxid sterilisiert.

[0077] Die Beschichtung des zweiten textilen Flächengebildes **1** (Typ 2) erfolgt entsprechend, jedoch wurde Chondroitin-4-sulfat ersetzt durch 0,5 mg/ml Heparansulfat.

[0078] Die sterilisierten textilen Flächengebilde werden aus gerührter Suspension mit amplifizierten humanen mesenchymalen Stammzellen (hMSC) besiedelt. Die mittlere Zellzahl liegt bei 2,5 105 pro textilem Flächengebild.

[0079] Die Kultivierung für die textilen Flächengebilde **1** vom Typ 1 erfolgt in Perfusionskultur. Als Medium kommt DMEM (Dulbecco's Minimum Essential Medium), mit Zusatz von 10 % autologem Serum, Dexamethason (10 nMol/l), b-GP (beta-Glycerophosphat) (10 mMol/l), Ascorbat (50 µg/ml) zum Einsatz.

[0080] Die Kultivierung für die textilen Flächengebilde **1** vom Typ 2 erfolgt auch in Perfusionskultur. Als Medium kommt DMEM, mit Zusatz von 10 % autologem Serum zum Einsatz. Die Flussraten sind so gewählt, dass sich konstante pH-Werte und Nährstoffkonzentrationen einstellen.

[0081] Nach 15 bis 20 Tagen Kulturdauer werden die mit Zellen besiedelten textilen Flächengebilde **1** steril entnommen und am Implantationsort auf den Marknagel **3** gesteckt. Die empfohlene Reihenfolge entsteht durch Stapeln von 3 Serien aus 9 textilen Flächengebilden **1** vom Typ 1 und 1 textilem Flächengebild vom Typ 2. Durch dieses Stapeln wird ein Gewebeersatz nach dem Prinzip des Tissue Engineering (TE – Fig. 1) aufgebaut, der bei der Implantation den Knochendefekt ausfüllt.

Ausführungsbeispiel 2

Zur Behandlung von 3 cm Defektlänge:

[0082] Alle Flächengebilde 1 werden aus 12-filamentären Fäden aus P3HB auf ein Vlies aus Polyvinylalkohol gestickt (Doppelsteppstich). Das Auslösen des Trägers erfolgt mit warmem Wasser ($T = 60^{\circ}\text{C}$) in großem Überschuss. Silikonhaltige Schmierstoffe werden in einem Reinst-Heptan-Bad bei Raumtemperatur aus den Konstrukten entfernt. Das Eintauchen in methanolische (50 % v/v) Natronlauge (1,5 M) für eine Dauer von 30 min dient der oberflächlichen Hydrophilierung. Nach der Beschichtung der Flächengebilde 1 (s.u.) erfolgt die Sterilisation mit Ethylenoxid. Die sterilisierten Flächengebilde 1 werden aus gehärteter Suspension mit amplifizierten expandierten hMSC besiedelt. Die mittlere Zellzahl liegt bei $2,5 \cdot 10^5$ pro Flächengebilde 1.

P3HB-Flächengebilde vom Typ 1:

[0083] Analog zu den Ausführungen zu [Fig. 4](#).

Matrix für P3HB-Flächengebilde vom Typ 1:

[0084] Eine Tropokollagen-I-Lösung (10 mg ml^{-1} in 10 mM Essigsäure) enthaltend Chondroitin-4-sulfat (2 mg ml^{-1}) wird hergestellt. Der pH-Wert wird durch einen Puffer auf 7,4 eingestellt. Die Aufbringung erfolgt ortsaufgeblöst aus einem Mikrodosiersystem in solcher Weise, dass die Kollagenflächenkonzentration dem Porositätsgradienten entsprechend von außen nach innen abnimmt ([Fig. 5](#)). Entlang des Umfangs wird auf einer Breite von 3 mm ein Streifen eines Fibronektin-Geles (10 mg/ml) dosiert, um dort die Zelladhäsion zu steigern. Die Strukturbildung dauert bei 37°C 12 h.

P3HB-Flächengebilde vom Typ 2:

wie Typ 1, jedoch zusätzlich mit 4 radial angeordneten, gleichverteilten Schlitzten mit einer Breite von 1 mm;

Matrix Typ 2:

wie Matrix Typ 1, jedoch wurde Chondroitin-4-sulfat ersetzt durch $0,5 \text{ mg ml}^{-1}$ Heparansulfat. Die Aufbringung des Fibronektin-Geles erfolgt hierbei analog der Kollagenbeschichtung.

[0085] Die Kultivierung für die Flächengebilde vom Typ 1 erfolgt in Perfusionskultur. Als Medium kommt DMEM, mit Zusatz von 10 % autologem Serum, Dexamethason (10 nM), b-GP (10 mM), Ascorbat ($50 \mu\text{g ml}^{-1}$) zum Einsatz.

[0086] Die Kultivierung für der Flächengebilde vom Typ 2 erfolgt auch in Perfusionskultur. Als Medium

kommt DMEM, mit Zusatz von 10 % autologem Serum zum Einsatz. Die Flussraten sind so zu wählen, dass sich konstante pH-Werte und Nährstoffkonzentrationen einstellen.

[0087] Nach 15 bis 20 Tagen Kulturdauer werden die Zell-Matrix-Konstrukte steril entnommen und am Implantationsort auf den Marknagel 3 gesteckt ([Fig. 7](#)).

Ausführungsbeispiel 3:

Behandlung von 1 cm Bohrdefekt an der Epiphyse:

[0088] Ausgangsprodukt zur Herstellung der Flächengebilde 1 ist ein genadeltes Filzvlies aus einem multifilen Poly-L-Milchsäure(50mol%)-Glykolsäure(50%) (PLGA) Fäden. Mittels Stanzform werden Flächengebilde 1 ausgeschnitten, die als Stapel der erzeugten Bohrlöchengeometrie entsprechen. Es erfolgen Hydrophilierung und Sterilisation.

[0089] Die Form der PLGA-Flächengebilde 1 sind dem Bohrdurchmesser angepasste Ronden (s. [Fig. 11](#)).

Matrix Typ 1:

[0090] Eine sterile Tropokollagen-II-Lösung (10 mg ml^{-1} in 10 mM Essigsäure) enthaltend Hyaluronsäure (2 mg ml^{-1}) wird hergestellt. Der pH-Wert wird durch einen Puffer auf 7,4 eingestellt. Dabei wird eine physiologische Osmolarität erreicht.

Matrix Typ 2:

[0091] Eine Tropokollagen-I-Lösung (10 mg ml^{-1} in 10 mM Essigsäure) enthaltend Chondroitin-4-sulfat (2 mg ml^{-1}) wird hergestellt.

[0092] Im Falle der Matrix 1 wird vor der Fibrillogenese das Gel mit patienteneigenen Knorpelzellen (Chondrozyten) vermischt und auf den Flächengebilden in chondrogen differenzierendem Medium vor-kultiviert. Dies kann vor oder während des Eingriffes erfolgen.

[0093] Die Kultivierung für die Flächenelemente 1 vom Typ 2 erfolgt vor der Operation in Perfusionskultur mit osteogenen Zusätzen. Nach 15-20 Tagen Kulturdauer werden die Zell-Matrix-Konstrukte steril entnommen.

[0094] So kann der innere Defektraum mit mehreren Lagen der knochenspezifischen Flächenelemente 1 des Typs 2 gefüllt werden. Den Abschluss bilden zwei Lagen aus Flächenelementen 1 des Typs 1. Die außenliegende, leicht vergrößerte Lage wird zur Fixierung am Periost vernäht.

Patentansprüche

riert sind.

1. Implantat zur Behandlung von Röhrenknochendefekten, **dadurch gekennzeichnet**, dass das Implantat mindestens zwei Lagen von Flächengebilden aus bioresorbierbaren Materialien enthält, dass die Flächengebilde und die Lagen der Flächengebilde an die Geometrie des Röhrenknochendefektes angepasst sind, dass die Lagen aus Stapeln und/oder Rollen und/oder Wickeln und/oder Faltungen der Flächengebilde bestehen und dass die Flächengebilde und/oder Lagen miteinander und nach Außen verbundene Hohlräume aufweisen, die das Einwandern von Zellen sowie Einwachsen von Blutgefäßen erlauben.

2. Implantat nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Lagen und/oder Flächengebilde teilweise oder ganz mit einer künstlichen extrazellulären Matrix beschichtet sind.

3. Implantat nach Anspruch 2 oder 3, dadurch gekennzeichnet, dass Teile eines Flächengebildes oder wenigstens zwei Flächengebilde unterschiedlich beschichtet sind.

4. Implantat nach Anspruch 2 oder 3, dadurch gekennzeichnet, dass eine der extrazellulären Matrices die Besiedlung mit Osteoprogenitorzellen oder Osteoblasten fördert.

5. Implantat nach einem der Ansprüche 2 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass eine der extrazellulären Matrices die Besiedlung mit Chondroprogenitorzellen oder Chondrozyten fördert.

6. Implantat nach einem der Ansprüche 2 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass eine der extrazellulären Matrices die Besiedlung mit Endothelprogenitorzellen oder Endothelzellen fördert.

7. Implantat nach einem der Ansprüche 2 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass die Oberfläche der Flächengebilde hydrophiliert ist.

8. Implantat nach einem der Ansprüche 2 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass wenigstens ein Flächengebild mit Kollagen I beschichtet ist.

9. Implantat nach einem der Ansprüche 2 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass wenigstens ein Flächengebild mit Kollagen II beschichtet ist.

10. Implantat nach einem der Ansprüche 2 bis 9, dadurch gekennzeichnet, dass wenigstens ein Flächengebild mit Heparansulfat beschichtet ist.

11. Implantat nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass Teile eines Flächengebildes oder wenigstens zwei Flächengebilde ortsaufgelöst struktu-

12. Implantat nach Anspruch 1 dadurch gekennzeichnet, dass Teile eines Flächengebildes oder wenigstens zwei Flächengebilde eine unterschiedliche Materialflächendichten aufweisen.

13. Implantat nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass wenigstens zwei Flächengebilde unterschiedliche äußere Konturen aufweisen.

14. Implantat nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass die Beschichtung auf wenigstens einem Flächengebild ortsaufgelöst strukturiert ist.

15. Implantat nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, dass die Beschichtung mittels Gefrier-trocknen strukturiert ist.

16. Implantat nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass wenigstens ein Teil der aufeinander liegenden Flächengebilde in ihrer Lage zueinander fixiert sind.

17. Implantat nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, dass die Flächengebilde um einen Marknagel angeordnet oder mittels eines resorbierbaren Fixateurs fixiert sind.

18. Implantat nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, dass zur Fixierung der Lagen der Flächengebilde fadenförmige Befestigungselemente vorgesehen sind, die etwa senkrecht durch die Flächengebilde verlaufen.

19. Implantat nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass wenigstens ein Flächengebild ein textiles Flächengebild ist.

20. Implantat nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das textile Flächengebild aus bioresorbierbarem Polyhydroxyalkanoat, bevorzugt aus Poly(3-Hydroxybuttersäure), gefertigt ist.

21. Flächengebilde für ein Implantat zur Behandlung von Röhrenknochendefekten, dadurch gekennzeichnet, dass das Flächengebild aus bioresorbierbaren Materialien besteht, dass das Flächengebild an die Geometrie des Röhrenknochendefektes angepasst ist und dass das Flächengebild nach Innen und Außen reichende Hohlräume und eine interkonnectierte Porosität aufweist, die das Einwandern von Zellen sowie Einwachsen von Blutgefäßen erlaubt.

22. Flächengebilde nach Anspruch 21, dadurch gekennzeichnet, dass mindestens Teile des Flächengebildes ortsaufgelöst strukturiert sind und/oder eine unterschiedliche Materialflächendichte und/oder eine unterschiedliche Materialzusammensetzung aufweisen.

23. Flächegebilde nach Anspruch 21 oder 22, dadurch gekennzeichnet, dass die Oberfläche des Flächegebildes hydrophiliert ist.

24. Flächegebilde nach einem der Ansprüche 21 bis 23, dadurch gekennzeichnet, dass das Flächegebilde teilweise oder ganz mit einer künstlichen extrazellulären Matrix beschichtet ist.

25. Flächegebilde nach einem der Ansprüche 21 bis 24, dadurch gekennzeichnet, dass das Flächegebilde oder Teile davon unterschiedlich beschichtet sind.

26. Flächegebilde nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, dass eine der extrazellulären Matrices die Besiedlung mit Osteoprogenitorzellen oder Osteoblasten fördert.

27. Flächegebilde nach einem der Ansprüche 24 bis 26, dadurch gekennzeichnet, dass eine der extrazellulären Matrices die Besiedlung mit Chondroprogenitorzellen oder Chondrozyten fördert.

28. Verfahren zur Herstellung eines Implantates zur Behandlung von Röhrenknochendefekten aus mindestens zwei Lagen von Flächegebilden aus bioresorbierbaren Materialien und mit nach Innen und Außen reichenden Hohlräumen und einer interkonnektierter Porosität, wobei die Geometrie des Röhrenknochendefektes bestimmt und in zweidimensionale Strukturmuster für die Flächegebilde übertragen wird, wobei die Flächegebilde anhand dieser Strukturdaten gefertigt werden und vor der Implantation gemäß der Defektgeometrie zusammengeführt und in den Defektraum implantiert werden.

29. Verfahren nach Anspruch 28, dadurch gekennzeichnet, dass die Flächegebilde oberflächenmodifiziert und mit einer künstlichen extrazellulären Matrix beschichtet werden.

Es folgen 5 Blatt Zeichnungen

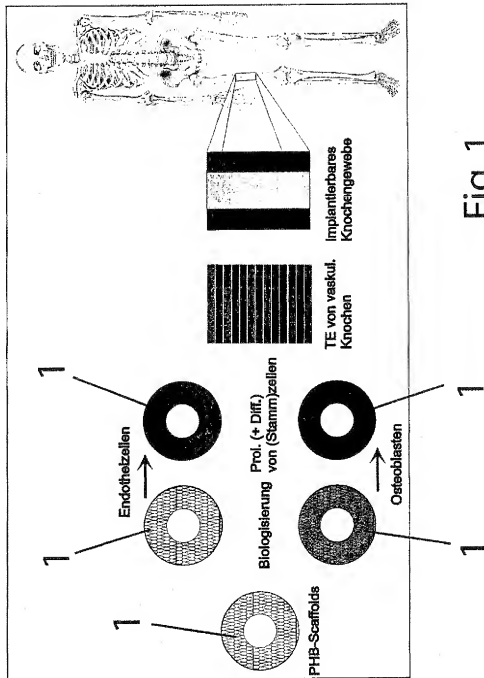


Fig. 1

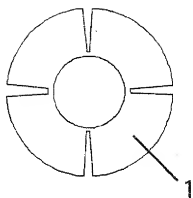


Fig. 2

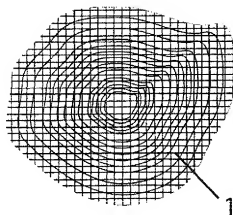


Fig. 3

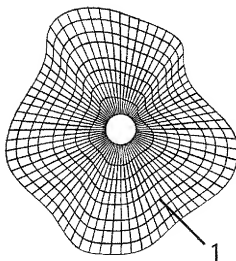


Fig. 4

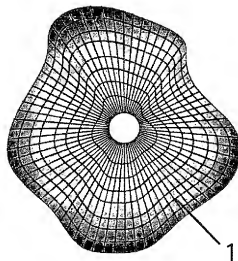


Fig. 5

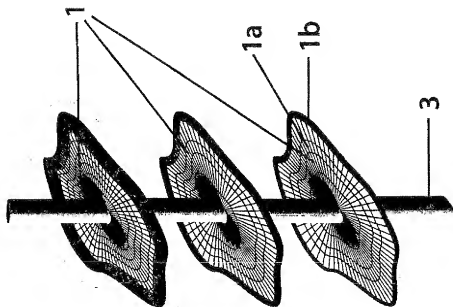


Fig. 7

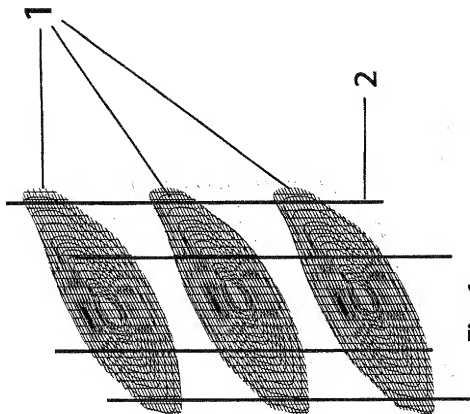
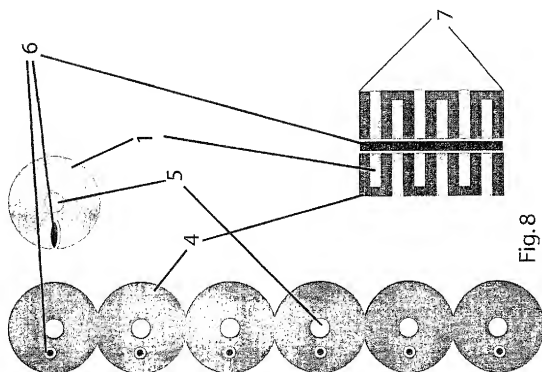
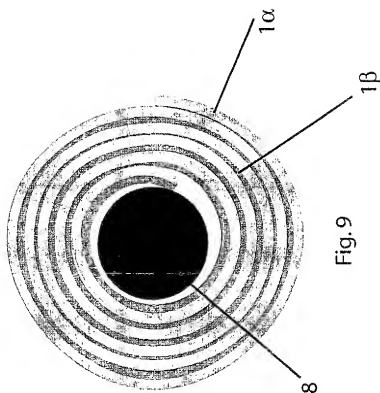


Fig. 6



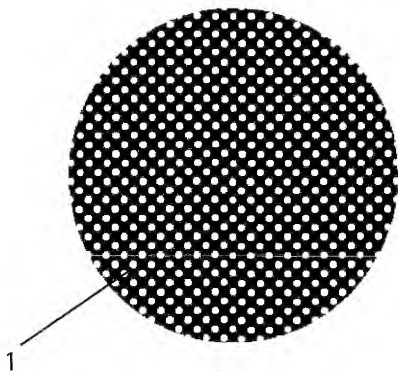


Fig. 11

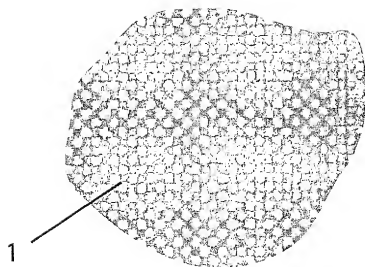


Fig. 10